

Выявление колебательной структуры спектров испускания люминесценции водных растворов тимина при комнатной температуре

Малкин В. М.¹, Тулина Т. А.²

¹Малкин Владимир Михайлович / Malkin Vladimir Mikhailovitch – кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры,

кафедра общей физики 2, физический факультет;
ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет,
преподаватель кафедры,

кафедра общенаучных и общетехнических дисциплин,
Военная академия материально-технического обеспечения имени генерала армии А. В. Хрулёва Министерства обороны
Российской Федерации;

²Тулина Татьяна Адриановна — преподаватель,
кафедра общенаучных и общетехнических дисциплин,
Военная академия материально-технического обеспечения имени генерала армии А. В. Хрулёва Министерства обороны
Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Аннотация: были экспериментально получены данные о колебательной структуре спектров люминесценции тимина в водных растворах при комнатной температуре.

Abstract: vibrational structure of the thymine luminescence in water solutions at room temperature spectra have been established experimentally.

Ключевые слова: колебательная структура, тимин.

Keywords: vibrational structure, thymine.

Введение

Для многоатомных молекул характерна структура энергетических уровней с расщеплением электронных уровней на колебательные подуровни, каждый из которых, в свою очередь, расщеплён на вращательные подуровни [1, 2]. В идеале, такой структуре уровней должны соответствовать линейчатые спектры испускания люминесценции, в которых каждой линии можно было бы сопоставить переход с нулевого колебательного подуровня первого электронно-возбуждённого энергетического уровня молекулы на один из колебательно-вращательных подуровней основного состояния.

Однако, в водных растворах многоатомных молекул при комнатной температуре такая структура спектров не наблюдается, вместо неё мы, обычно, видим размазанную широкую полосу, в которой отсутствуют заметные проявления колебательной структуры. В качестве примера, могу сослаться на работы [3-12]: при всём разнообразии объектов исследования, в них можно найти очень сходные спектры испускания люминесценции в виде размазанных полос. Такое искажение спектров может быть связано как с большей шириной колебательных полос спектров, вызванной тепловым движением молекул, так и с различием ближнего окружения молекул в жидкости, влияющего на положения их колебательных и вращательных полос.

Как известно, в спектрах люминесценции растворённых в стеклюющихся смесях молекул при понижении температуры может выявляться колебательная структура (эффект Шпольского) [2, 13, 14].

Хотя эффект Шпольского позволяет обнаружить проявления колебательной структуры основного электронного состояния молекул, он требует создания специальных условий наблюдения и непригоден для исследования колебательной структуры спектров многих биологически значимых молекул, например — азотистых оснований нуклеиновых кислот, в водных растворах при комнатной температуре.

Данные о структуре колебательных подуровней основного состояния таких молекул в близком к естественному водном окружении затруднительно получить и методами ИК-спектроскопии, т.к. сам растворитель (вода) сильно поглощает свет в ИК-области [15]. Исследование ИК-спектров поглощения очень тонких (прозрачных для ИК света) слоёв водных растворов тех же азотистых оснований НК затруднено малой растворимостью исследуемого вещества. В случае тонких слоёв дополнительные затруднения могут быть вызваны необходимостью как-то учесть возможность влияния на получаемые ИК спектры адсорбции этих молекул на внутренней поверхности кюветы с образцом и их агрегации в растворах с близкими к предельным концентрациями.

Естественно, у любого исследователя должно возникнуть желание каким-либо образом извлечь из спектров испускания люминесценции информацию об их колебательной структуре, скрытую вследствие разнообразных помех. В предположении, что такие помехи имеют случайный характер, а колебательная структура спектров, присущая данной молекуле — воспроизводится в сходных условиях, была сделана попытка исследования статистики распределения по длинам волн кажущихся, на первый взгляд, случайными пиков и плеч, наблюдавшихся на большом количестве спектров люминесценции водных растворов тимина, полученных при комнатной температуре. Обычно такого рода особенности спектров отбрасываются при их обработке вместе с приборными шумами, но в данном случае была сделана попытка разобраться в том, нет ли закономерности в их распределении по длинам волн.

Методика эксперимента и обработки данных

Спектры испускания люминесценции были получены на высококласном спектрофлуориметре «Hitachi 850» с двойным монохроматором возбуждения, светосильным монохроматором испускания и автоматической коррекцией спектров.

Использовались люминесцентно-чистые образцы тимина производства «Sigma» и «Calbiochem».

Вода для приготовления растворов готовилась либо методом двойной перегонки (первая — в проточном дистилляторе, вторая — фракционная с добавлением в стеклянный перегонный аппарат KMnO_4), либо с использованием многоуровневой фильтрационной установки. Для контроля pH (6.0 — 7.0) использовался фосфатный буфер ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$, «Sigma»). Чистота воды и полученного из неё буферного раствора контролировалась сравнением интенсивности люминесценции примесей с интенсивностью пика рассеяния Рамана (интенсивность свечения примесей при возбуждении на 260 нм была не менее чем в 15 раз ниже интенсивности Рамановского рассеяния).

Обработка статистики (гистограммы распределения пиков и плеч по длинам волн) велась с использованием программы «Origin». Погрешность по разбросу данных для каждой из полос колебательной структуры получена с доверительной вероятностью не менее 80%, погрешность прибора — 0,1 нм.

Результаты и обсуждение

Исследование более 200 спектров люминесценции показало, имеющиеся на них что малые пики и плечи, как и предполагалось, распределены не случайным образом. Был выявлен ряд длин волн, соответствующих переходам с нулевого колебательного подуровня первого электронно-возбуждённого уровня тимина на различные колебательные подуровни основного уровня этой молекулы. Эти результаты, с указанием погрешностей, приведены в таблице (ниже).

Таблица 1. Переходы с нулевого колебательного подуровня первого электронно-возбуждённого энергетического уровня тимина на колебательные подуровни его основного энергетического уровня

Переход	Длина волны, нм
0 — 0	295,3 ± 0,5
0 — 1	303,0 ± 0,2
0 — 2	312,0 ± 0,2
0 — 3	319,0 ± 0,2
0 — 4	327,0 ± 0,2
0 — 5	336,1 ± 0,2
0 — 6	343,9 ± 0,2
0 — 7	353,1 ± 0,2
0 — 8	363,1 ± 0,2
0 — 9	371,8 ± 0,3
0 — 10	381,8 ± 0,4
0 — 11	390,2 ± 0,4
0 — 12	403,1 ± 0,6

Таким образом, удалось извлечь информацию о колебательной структуре спектров испускания люминесценции водных растворов тимина при комнатной температуре, что позволяет судить о структуре колебательных подуровней основного уровня данной молекулы в указанных условиях.

Полученные результаты интересны как сами по себе: прямых экспериментальных данных о колебательной структуре спектров тимина в водных растворах при комнатной температуре пока не было опубликовано, причём о структуре колебательных подуровней основного уровня его молекул в таких условиях судят либо по результатам исследований его ИК-спектров в неводной среде [16], либо по расчётным данным [17]. Кроме того, данный метод позволяет, в принципе, исследовать влияние взаимодействия тимина с другими растворёнными в воде веществами на колебательную структуру его спектров, а, следовательно, позволяет судить о характере таких взаимодействий.

Понятно, что предложенный метод можно использовать и для исследований колебательной структуры спектров других многоатомных молекул в водных растворах при комнатной температуре.

Литература

1. Теренин А.Н. «Фотоника молекул красителей» М-Л, 1967
2. Паркер С. «Фотолюминесценция растворов» М., 1972
3. Рапопорт В.Л., Малкин В.М., Савина А.В., Сафаргалеева Е.А., Горючко В.В. «Люминесценция прочносвязанных стопочных агрегатов аденина и урацила в воде» «Биофизика» 2012 Т.57, вып. 1, стр. 14-20
4. Рапопорт В.Л., Малкин В.М. «Изучение спектрально-люминесцентных проявлений агрегации тиминовых

- хромофоров в водных растворах политимидиловой кислоты при комнатной температуре в связи с задачей фотохимической записи информации на тимине» «Биофизика» 2008, Т.5, вып. 1, стр. 734-740
5. *Rapoport V. L., Malkin V. M., Zorina S. V., Komarov S. M., and Goryuchko V. V.* «Luminescence Detection of Tightly Bound Stacking Aggregates of Adenine and Adenosine in Aqueous Solutions—the Candidates for the Role of the First Genetic Templates» «Doklady Biochemistry» 2006 V.406 (3) 23-26
 6. *Malkin V.M., Rapoport V.L.* «Luminescence of aqueous thymine solutions at room temperature» «Biophysics» 1999 V.44 (6) pp. 992-996
 7. *Rapoport V. L., Malkin V. M., Bykov N. A., Goryuchko V. V.* «Luminescence Detection and Study of Tightly Bound Stacking Aggregates of Nitrogen Bases of Nucleic Acids, Nucleosides, and Nucleotides in Water and on the Quartz Surface as Candidates for the First Genetic Templates (Chapter 12)» «Problems of Biosphere Origin and Evolution» 2013 Volume 1 (Ed. E. M. Galimov) pp. 239-250
 8. *Рапопорт В.Л., Малкин В.М., Сафаргалеева Е.А., Решетова К.И., Горючко В.В.* «Люминесцентное исследование первичных стадий химической эволюции с участием прочносвязанных стэкинг-агрегатов аденина и урацила» «Проблемы зарождения и эволюции биосферы: Допланетная стадия развития Солнечной системы. Реконструкция химических и геологических условий на ранней Земле. Теоретические и экспериментальные исследования предбиологических химических систем. События и факторы эволюции биосферы» 2013 Т.2 (Под ред. Э. М. Галимова) стр. 365-372
 9. *Рапопорт В.Л., Малкин В.М., Быков Н.А., Горючко В.В.* «Люминесцентное обнаружение и изучение прочносвязанных стэкинг-агрегатов азотистых оснований нуклеиновых кислот, нуклеозидов и нуклеотидов в воде и на поверхности кварца – кандидатов на роль первых генетических матриц» «Проблемы зарождения и эволюции биосферы» 2008 (Под ред. Э. М. Галимова) стр. 169-178
 10. *Kononov A. I., Bakulev V. M., Rapoport V. L.* «Exciton effects in dinucleotides and polynucleotides» «Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology» 1993 V.19 pp. 139-144
 11. *Bukina M.N., Bakulev V.M., Barmasov A.V., Zhakhov A.V., Ischenko A.V.* «Luminescence diagnostics of conformational changes of the Hsp70 protein in the course of thermal denaturation» «Optics and Spectroscopy» 2015 V. 118 (6) 899-901
 12. *Kononov A.I., Bakulev V.M.* «Red-shifted fluorescence from polyguanylic acid in aqueous solution at room temperature» «Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology» 1996 V.24 (2-3) pp. 211-216
 13. *Шпольский Э.В.* «Успехи физических наук» 1960 Т. 71, стр. 215
 14. *Шпольский Э.В.* «Успехи физических наук» 1959 Т. 68, стр. 51
 15. *Смит А.* «Прикладная ИК-спектроскопия» М. 1982
 16. *Степаньян С.Г., Радченко Е.Д., Шеина Г.Г. и др.* «Конформационный анализ 5-замещённых производных урацила» «Биофизика» 1988 Т. 34 вып. 5 стр. 753-758
 17. *Тен Г.Н., Нечаев В.В., Панкратов А.Н. и др.* «Влияние водородной связи на структуру и колебательные спектры комплементарных пар оснований нуклеиновых кислот. II. Аденин — тимин» «Журнал структурной химии» 2010 Т. 51 № 5 стр. 889-895